

イヌ MEGF10 遺伝子における single nucleotide polymorphism (SNP) 分析

林 正 信¹⁾・長谷川 時 央¹⁾・遠 藤 大 二¹⁾・泉 澤 康 晴²⁾

Analysis of single nucleotide polymorphism (SNP) in canine MEGF10 gene

Masanobu HAYASHI¹⁾, Tokio HASEGAWA¹⁾, Daiji ENDOH¹⁾ and Yasuharu IZUMISAWA²⁾
(Accepted 21 July 2014)

序 文

腫瘍をはじめとしてイヌの様々な疾患では犬種によって発生率に差異が見られ、発症に遺伝的背景が関与していると考えられているが、原因遺伝子が明らかとなっている疾患は少ない。特に、複数の遺伝子が関与している量的形質に係る遺伝子と疾患の関連性については明らかでない場合が多い。複数の遺伝子の関わる量的形質についての解析には single nucleotide polymorphism (SNP) やマイクロサテライトマーカーなどの多型マーカーを用いた量的形質座位(Quantitative trait locus : QTL)解析が利用されている。SNP は特定の塩基配列の一塩基置換が集団内で1%以上の頻度で見られる場合で、突然変異より集団内での存在頻度が高い。また、SNP の内、コーディング領域に存在する SNP が cSNP である。QTL 解析は、設定した多型マーカーの遺伝子地図から特定の遺伝子マーカーの遺伝子型に従って対象集団を再分類し、各群の量的形質(連続した実数値で示される形質)の平均値に差が認められた場合、その遺伝子型を決めたマーカーに連鎖して、QTL が存在すると考える解析法である [9-12]。対象の QTL が各マーカーのどの位置に存在するかを正確に推定する手段として、区間マッピング法を用い [10, 11], 実在マーカー間の任意の位置に QTL の存在を仮定し、各遺伝子型群の表現型データが得られる確率を最大にする最尤推定値を求め、その尤度を L とする。一方でマーカー間に QTL が存在せず、座位と表現型が無関係と仮定した場合にデータが得ら

れる確率(帰無仮説の尤度)を L_0 とし、 $\log_{10}L/L_0 = \text{LOD}$ (logarithm of odds) 値を計算する。このような反復計算をすべての領域で行い、LOD 値が最大となる位置を QTL の位置と推定する。LOD 値の統計学的な有意性を判断する基準として、Lander ら [10, 11]によって、モデル疾患における多因子性疾患のガイドラインが報告されており、LOD 値が 4.3 以上の場合を significant linkage, LOD 値が 2.8~4.3 の場合を suggestive linkage としている。

獣医整形外科領域で問題となっている疾患として股関節形成不全や椎間板ヘルニアがあり、それぞれ、セントバーナード、ジャーマンシェパード、ラブラドルレトリバー、ゴールデンレトリバー、ロットワイラーなどの大型犬やミニチュア・ダックスフンド、ビーグル、シーズー、コーギー、ペキニーズなどの軟骨異常栄養性犬種が好発犬種である [5]。

股関節形成不全は、若齢の罹患動物における大腿骨頭の垂脱臼もしくは完全な脱臼と、それより高齢の罹患動物における軽度から重度の変形性関節症によって特徴づけられる股関節の発育異常である。股関節形成不全の原因は多因子性であり、遺伝的要因が70%と環境的要因が30%と考えられており、その両者が、異常な骨と軟部組織の発育に関与するが、遺伝的因子が主たる要因である。好発犬種は上記のとおり大型犬種であるが、日本のラブラドルレトリバーの股関節形成不全の有病率は46.7%(2003年日本動物遺伝病ネットワーク調べ)であるのに対し、バーニーズ・マウンテン・ドッグでの有病率は25.3% [6] と差がある。また、股関節形成不全は小

¹⁾ 酪農学園大学獣医学群獣医学類獣医放射線生物学ユニット

Basic Veterinary Radiology, and Orthopaedic and neurosurgery, Department of Veterinary Medicine, School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University, Bunkyo-dai Midorimachi 582, Ebetsu, Hokkaido, 069-8501, Japan

²⁾ 酪農学園大学獣医学群獣医学類伴侶動物外科学1ユニット

Basic Veterinary Radiology, and Orthopaedic and neurosurgery, Department of Veterinary Medicine, School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University, Bunkyo-dai Midorimachi 582, Ebetsu, Hokkaido, 069-8501, Japan

Correspondence to: Masanobu Hayashi

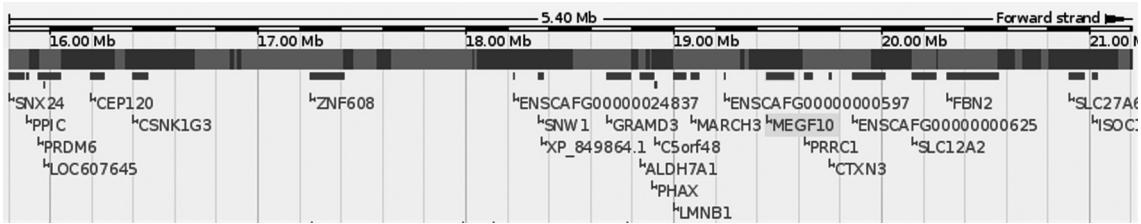


Fig. 1 Genes located in the region of 15.8-21.2 cM of canine chromosome 11 (from Ensembl data base)

型犬種でも見られることがあるが、小型犬種の場合には一般に臨床症状を示すことが少ないため、問題とされていない。

股関節形成不全の遺伝的な背景については、Willis [23] による大規模な調査結果により股関節形成不全の両親から産まれた子は 63%~93%に股関節異常が見られたのに対し、股関節の正常な両親からは 19%~36%しか異常が見られないことが報告されている。この報告後、大腿骨頭と寛骨臼の緩みの度合いである distraction index (DI) 値などを用いた QTL 解析が行われ、イヌの第 11 番染色体の 16.2~21 cM 領域に高い LOD 値が示された[28]。また、第 11 番染色体より LOD 値は低いが、第 29 番染色体の 20~21.4 cM 領域でも疾患と関連する遺伝子の存在の可能性が示された[29]。しかしながら、股関節形成不全の発症に直接関連する遺伝子や発症機序との関係については明らかとなっていない。

高い LOD 値を示したイヌ第 11 番染色体の 16.2~21 cM 領域に存在する遺伝子を ensemble (<http://www.ensembl.org/index.html>) のデータベースと照合し、この領域に含まれる遺伝子群を Fig. 1 に示した。本研究ではこの領域に含まれる遺伝子について、SNP での多型分析を試みた。解析の対象遺伝子としてタンパク質をコードしており、

cSNP として多型が報告されている遺伝子とし、multiple EGF-like domains 10 (MEGF10) 遺伝子を選択した。MEGF10 は線虫 nematode の cell death abnormal-1 (CED-1) 遺伝子の哺乳動物におけるオルソログで[21, 22]、CED-1 はアポトーシス細胞の貪食に関係している膜貫通蛋白質である [6, 28]。アポトーシスと死細胞の貪食は、発生、組織の恒常性維持、自己免疫に重要な機能であることはよく知られており [25]、筋肉の分化過程 [14] や骨のモデリング・リモデリング [13] においても重要な役割を果たしている。しかしながら、哺乳動物におけるアポトーシス細胞の貪食について MEGF10 の機能については中枢神経以外ではあまり明確となっていない[19, 24]。ヒトでは衛星細胞筋形成プログラムの進行調節 [8, 16] や統合失調症についての関与[1, 2] (ただしこれを否定する論文も報告されている [27])、脳での β -アミロイドの取り込み [20] などが報告されているが、イヌではこの遺伝子と疾患との関連性は示されていない。NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/474665>) のデータベースから MEGF10 遺伝子のタンパク質のコーディング領域に 7 つの cSNP が存在し、そのうちの 5 つの SNP でアミノ酸の変異を伴うことが示されている (Table 1)。本研究ではアミノ酸変異を伴う 5 つの

Table 1 cSNP of canine MEGF10 gene (SNP data base from NCBI)

No. of SNAP	Position of mRNA	SNP allele	Protein residue	Codon position	Position of amino acid
1	132	A	Gly	3	44
		G	Gly		
2	313	C	Arg	1	105
		T	Trp		
3	459	A	Thr	3	153
		G	Thr		
4	2585	T	Ile	2	862
		C	Thr		
5	3689	C	Ala	2	1230
		T	Val		
6	3809	T	Leu	2	1270
		C	Ser		
7	4052	T	Leu	2	1351
		A	His		

SNP (SNP2, 4, 5, 6, 7) についてイヌにおける多型の頻度について解析した。

材料と方法

1. 材料

2009 年～2010 年の間に、酪農学園大学附属動物病院の整形外科に来院したイヌ 26 頭 (10 犬種ならびに雑種) について解析を行った。なお、今回は当該遺伝子について犬種間などで SNP に差異がみられるのかを検討する目的で解析を行ったので、股関節脱臼以外の疾患を理由として来院したイヌについても解析対象とした。

2. DNA 調製

DNA は FastPure DNA Kit (TAKARA) を使用して調製した。調製した DNA 溶液の濃度は Nano-Drop Spectrophotometer ND-1000 を用いて 260 nm の吸光度から測定した。また、230 nm と 260 nm の吸光値の比から精製度を確認し、DNA 濃度が 20 ng/ μ l となるよう 10 mM Tris-1 mM EDTA (pH 7.4) に溶解した。

3. PCR

それぞれの SNAP を含む DNA 配列の増幅に使用したプライマーを Table 2 に示した。

PCR は Go Taq Pol (TAKARA) を用い、サーマルサイクラー Bio-Rad iCycler にて以下のような増幅反応を行った。

SNP2 を含む配列の PCR 反応では 95°C 2 分間処理後、(95°C 1 分間, 54°C 1 分間, 72°C 1 分間) のサイクルを 35 サイクル行い、その後 72°C 5 分間処理を行った。

SNP4～6 を含む配列の PCR 反応では 95°C 2 分間処理後、(95°C 1 分間, 62°C 1 分間, 72°C 1 分間) のサイクルを 35 サイクル行い、その後 72°C 5 分間処理を行った。

PCR 産物は GenElute PCR Clean-Up Kit (SIGMA ALDRICH) により精製後、北海道システム・サイエンス株式会社の次世代シーケンス解析

サービスにより、DNA の塩基配列を決定した。

結 果

本研究ではイヌの整形外科分野で重要な疾患である股関節形成不全の遺伝的な背景について検討する目的で MEGF10 遺伝子の cSNP についての解析を行った。イヌの股関節形成不全に関わる QTL 解析の結果は第 11 番染色体の 16.2～21 cM 領域に高い LOD 値が示されている [29]。この領域に位置している遺伝子からタンパク質をコードしている遺伝子で、コーディング領域に cSNP が報告されている遺伝子として MEGF10 遺伝子を選択した。MEGF10 遺伝子には 7 つの cSNP が報告されており、そのうち 5 箇所の cSNP はアミノ酸の変異を伴う (Table 1)。この 5 箇所の cSNP についてのイヌ 26 頭 (10 犬種ならびに雑種) での結果を犬種ごとに Table 3 に示した。なお、Std はイヌ MEGF 遺伝子の塩基配列として報告されている塩基を示し、SNP は多型として報告されている塩基を表す (Table 1)。犬種ごとの頭数が異なるため、犬種間の統計的な解析はできないが、SNP4 と SNP5 ではほとんどの犬種で Std として報告されている塩基を示し、全体としての SNP の頻度はそれぞれ、7.7% と 11.5% であった。SNP2 と 6 では全体では Std と SNP の塩基の比は 2 対 1 程度であった。SNP の頻度は SNP2 と 6 でそれぞれ 26.9% と 38.5% であったが、SNP2 ではメラニアンで 2 頭とも SNP であり、また、SNP6 ではミニチュアダックスフンドでは 7 頭中 6 頭が SNP を示した。SNP7 では SNP として報告されている塩基を示した頭数が全体の 65.3% であり、イヌの標準配列として示されている頻度より約 2 倍高いことが示された。特に、チワワでは 3 頭全て、ミニチュアダックスフンドでは 7 頭中 6 頭が SNP の塩基を示した。このように SNP の頻度は SNP の位置と犬種で異なっていることが示された。

考 察

イヌの股関節形成不全では高発犬種があり、遺伝的背景との関連性が示されている [5, 23] が、原因

Table 2 Nucleotide sequences of primers

No. of SNP	Forward primer	Reverse primer
2	5' acccacagagggaggaaaac 3'	5' acaaagtgggtgggaaggtg 3'
4	5' catgccattggaaacctat 3'	5' ggctggctgagtttagatgc 3'
5	5' tggagagcttacgctggact 3'	5' tggctgtacatggtggtta 3'
6	5' ccagcagattgtcatcctga 3'	5' agggcaggggtgtaggtaac 3'
7	5' tacagaaaccttccccaca 3'	5' tagcactgcatctggcaaac 3'

Table 3 SNP analysis of canine MEGF10 gene

Breed	Number of dogs	SNP2		SNP4		SNP5		SNP6		SNP7	
		Std	SNP	Std	SNP	Std	SNP	Std	SNP	Std	SNP
SNP allele		T	C	C	T	T	C	C	T	A	T
Chihuahau	3	1	2	3	0	3	0	3	0	0	3
Toy-poodle	3	3	0	3	0	3	0	3	0	2	1
Pekingese	1	0	1	1	0	1	0	1	0	1	0
Boston Terrier	1	1	0	0	1	0	1	1	0	1	0
Pomeranian	2	0	2	2	0	1	1	2	0	2	1
Miniature Dachshund	7	7	0	7	0	7	0	1	6	1	6
Mongrel	2	1	1	2	0	1	1	2	0	0	2
Shetland Sheepdog	1	0	1	1	0	1	0	1	0	1	0
Shiba	2	2	0	2	0	2	0	2	0	0	2
Bernese Mountain Dog	1	2	0	2	0	2	0	1	1	1	1
Labrador Retriever	1	1	0	0	1	2	0	0	1	0	1
Total	26	19	7	24	2	23	3	16	8	9	17

Std and SNP represent original nucleotides and polymorphic nucleotides for each SNP allele, respectively.

となる遺伝子については明らかとなっていない。また、ヒトでの股関節形成不全も家系解析などの結果から遺伝的背景が関与していることが報告されている [3, 26] が、直接リスクと関連する遺伝子については明らかとなっていない [18]。ヒトの白蓋形成不全は女性が罹患しやすいことや中～高齢で発症することなど、イヌとは異なる点が多い。

本研究では MEGF10 遺伝子の多型についてイヌ 26 頭 (10 犬種ならびに雑種) について解析し、犬種ごとに Std 配列と SNP 配列を示した頭数を示した。今回の結果から位置によって頻度は異なるが、標準の塩基配列から推定されるアミノ酸と異なる配列を示す場合であっても SNP によっては高い頻度で多型を示す配列が存在することが示された。したがって、塩基置換 (missense mutation) と疾病発症との関連性の解釈には十分な注意が必要であることが示唆される。今回の解析では犬種ごとの頭数が異なるため、犬種間での差異について統計的な解析はできないが、SNP7 では Std として報告されている塩基と異なる SNP を示した頭数が 65% 以上であり、特に、ミニチュアダックスフンドやチワワではほとんどのイヌで Std と異なる塩基を示した。

線虫の CED-1 はアポトーシスを起こした細胞に対する貪食に関係している膜貫通蛋白であり [6, 28], MEGF10 は哺乳類での CED-1 のオルソログである。アポトーシスした細胞の貪食は、発生、細胞の恒常性維持、自己免疫に重要な機能である [25] が、MEGF10 の哺乳動物でのアポトーシス細胞の貪食機能やその発生についての関連はあまり明らかと

なっていない。MEGF10 は脳や筋肉に多く発現していることが示されている [4, 15]。特に、筋線維周辺の衛星細胞で MEGF10 は多量に発現し、筋芽細胞の分化を抑制することで、衛星細胞筋形成プログラムの進行調節に関与していることが示されている [8, 16]。またヒトでは統合失調症についての関与が報告されている [1, 2]。さらに、様々な臓器の分化過程に関係する Notch シグナルの調節にも関係している [16]。Notch シグナルは神経や造血、血管、体節などの様々な臓器における分化過程に関与している。また、Notch シグナルは骨芽細胞の分化を抑制することや脊髄異形成とも関連していることが報告されている [7, 17]。

MEGF10 の機能と股関節形成不全との関連性については明らかでないが、股関節形成不全は骨の発育に対して筋肉の発育が不十分な場合に発症すると考えられており、MEGF10 が筋肉や骨形成過程で機能し、その SNP が関節や脊髄の形成調節に影響を与えることで股関節形成不全と関連することも考えられる。私共のラットでの解析では多くの臓器で MEGF10 遺伝子が発現しており、胎児、新生児、成体で臓器ごとに発現量が大きく異なることを示している (未公表データ)。特に筋肉や骨では胎児と新生児での発現量が高く、発生段階における関節の形成に関与していることも考えられた。しかしながら、イヌでは品種作成時の選抜によって遺伝的多様性が小さくなっていることが予想され、品種の作成や維持の過程において偶然に特定の塩基配列 (SNP) の頻度が特定の犬種で高くなったことも考えられる。

今後、MEGF10 のイヌにおける機能や SNP による機能への影響を検討することが必要である。

引用文献

1. Chen, X., Wang, X., Chen, Q., Williamson, V., van den Oord, E., Maher, B.S., O'Neill, F.A., Walsh, D. and Kendler, K.S. 2008. MEGF10 association with schizophrenia. *Biol. Psychi.* **63**: 441-448.
2. Chen, X., Sun, C., Chen, Q., O'Neill, F.A., Walsh, D., Fanous, A.H., Chowdari, K.V., Nimgaonkar, V.L., Scott, A., Schwab, S.G., Wildenauer, D.B., Che, R., Tang, W., Shi, Y., He, L., Luo, X.J., Su, B., Edwards, T.L., Zhao, Z. and Kendler, K.S. 2009. Apoptotic engulfment pathway and schizophrenia. *PLoS One*: e6875.
3. Fan, J., Shi, D. and Jiang, Q. 2009. Progress in researches on the molecular genetics of developmental dysplasia of the hip. *Chinese J. Med. Genet.* **26**: 674-677.
4. Freeman, M.R., Delrow, J. Kim, J., Johnson, E. and Doe, C.Q. 2003. Unwrapping glial biology: Gcm target genes regulating glial development, diversification, and function. *Neuron* **38**: 567-580.
5. Gough, A. and Thomas, A. 2010. In: Breed predispositions to disease in dogs and cats. 2nd. Ed. Wiley-Blackwell.
6. Hamon, Y., Trompier, D., Ma, Z., Venegas, V., Pophillat, M., Mignotte, V., Zhou, Z. and Chimini, G. 2006. Cooperation between engulfment receptors: the case of ABACA1 and MEGF-10. *PLoS ONE*: e120.
7. Hilton, M.J., Tu, X., Wu, X., Bai, S., Zhao, H., Kobayashi, T., Kronenberg, H.M., Teitelbaum, S.L., Ross, F.P., Kopan, R. and Long, F. 2008. Notch signaling maintains bone marrow mesenchymal progenitors by suppressing osteoblast differentiation. *Nature Med.* **14**: 306-314.
8. Holterman, C.E., Le Grand, F., Kuang, S., Seale, P. and Rudnicki, M.A. 2007. Megf10 regulates the progression of the satellite cell myogenic program. *J. Cell Biol.* **179**: 911-22.
9. Lander, E.S. and Botstein, D. 1989. Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* **121**: 185-199.
10. Lander, E.S. and Kruglyak, L. 1995. Genetic dissection of complex traits: guidelines for interpreting and reporting linkage results. *Nature Genet.* **11**: 241-247.
11. Lander E.S. and Schork, N.J. 1994. Genetic dissection of complex traits. *Science* **265**: 2037-2048.
12. Lisitsyn, N.A., Segre, J.A., KUsumi, K., Lisitsyn, N.M., Frankel, W.N., Wigler, M.H. and Lader, E.S. 1994. Direct isolation of polymorphic markers linked to a trait by genetically directed representational difference analysis. *Nature Genet.* **6**: 57-63.
13. Matuo, K. 2009. Cross-talk among bone cells. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* **18**: 292-297.
14. Morishima, N., Nakanishi, K., Tsuchiya, K., Shibata, T. and Seiwa, E. 2004. Translocation of Bim to the endoplasmic reticulum (ER) mediates ER stress signaling for activation of caspase-12 during ER stress-induced apoptosis. *J. Biol. Chem.* **279**: 50375-50381.
15. Nagase, T., Nakayama, M., Nakajima, D., Kikuno, R. and Ohara, O. 2001. Prediction of the coding sequences of unidentified human genes. XX. The complete sequences of 100 new cDNA clones from brain which code for large proteins in vitro. *DNA Res.* **8**: 85-95.
16. Punch, V.G., Jones, A.E. and Rudnicki, M.A. 2009. Transcriptional networks that regulate muscle stem cell function. *Wires System Biol. Med.* **1**: 128-140.
17. Raaijmakers, M.H.G.P., Mukherjee, S., Guo, S., Zhag, S., Kobayashi, T., Schoonmaker, J. A., Ebert, B.L., Alshahrour, F., Hasserjian, R. P., Scadden, E.O., Aung, Z., Marza, M., Merckenschlager, M., Lin, C., Rommens, J.M. and Scadden, D.T. 2010. Bone progenitor dysfunction induces myelodysplasia and secondary leukemia. *Nature* **464**: 852-857.
18. Rubini, M., Cavallaro, A., Calzolari, E., Bighetti, G. and Sollazzo, V. 2008. Exclusion of COL2A1 and VDR as developmental dysplasia of the hip genes. *Clin. Orthop. Relat. Res.* **466**: 878-883.
19. Scheib, J.L., Sullivan, C.S. and Carter, B.D.

2012. Jed-1 and MEGF10 signal engulfment of apoptotic neurons through the tyrosine kinase Syk. *J. Neurosci.* **32**: 13022-13031.
20. Sign, T.D., Park, S.Y., Bae, J.S., Yun, Y., Bae, Y.C., Park, R.W. and Kim, I.S. 2010. MEGF10 functions as a receptor for the uptake of amyloid- β . *FEBS Letters* **584**: 3936-3942.
21. Suzuki, E. and Nakayama, M. 2007. The mammalian Ced-1 ortholog MEGF10/KIAA1780 displays a novel adhesion pattern. *Exp. Cell Res.* **313**: 2451-2464.
22. Suzuki, E. and Nakayama, M. 2007. MEGF10 is a mammalian ortholog of CED-1 that interacts with clathrin assembly protein complex 2 medium chain and induces large vacuole formation. *Exp. Cell Res.* **313**: 3729-3742.
23. Willis, M.B. 1989. Hip dysplasia. In: Genetics of the dog. Howell Book House: 144-179.
24. Wu, H., Bellmunt, E., Scheib, J., L., Venegas, V., Burkert, C., Reichardt, L.F., Zhou, Z., Fariñas, I. and Carter, B.D. 2009. Glial precursors clear sensory neuron corpses during development via Jedi-1, an engulfment receptor. *Nature Neurosci.* **12**: 1534-1541.
25. Wyllie, A.H., Kerr, J.F. and Currie, A.R. 1980. Cell death: the significance of apoptosis. *Int. Rev. Cytol.* **68**: 251-306.
26. Ying, G.Y., Jia, Y., Pei, F.X., Zhou, Z.K., Luan, R.S., Yu, H.T., Yang, J., Shen, B., Feng, W., Chen, Z.Y., Zheng, Y.C., Liu, W.G., Tang, S.G. and Song, Z.Y. 2007. One family investigation and risk factors analysis of developmental dysplasia of the hip. *Chinese J. Med. Genet.* **24**: 84-87.
27. Yun, L., Gu, Y. and Hou, Y. 2011. No association between schizophrenia and rs27388 of the MEGF10 gene in Chinese case-control sample. *Psychiatry Res.* **186**: 467-468.
28. Zhou, Z., Hartweg, E. and Horvitz, H.R. 2001. CED-1 is a transmembrane receptor that mediates cell corpse engulfment in *C. elegans*. *Cell* **104**: 43-56.
29. Zhu, L., Zhang, Z., Feng, F., Schweitzer, P., Phavaphutanon, J., Vernier-Singer, M., Corey, E., Friedenberg, S., Mateescu, R., Williams, A., Lust, G., Acland, G. and Todhunter, R. 2008. Single nucleotide polymorphisms refine QTL intervals for hip joint laxity in dogs. *Anim. Genet.* **39**: 141-146.

要 約

本研究ではイヌの整形外科分野で重要な疾患である股関節形成不全の遺伝的な背景を検討する目的で MEGF10 遺伝子の single nucleotide polymorphism (SNP) についての解析を行った。イヌの股関節形成不全についての量的形質座位 (Quantitative trait locus: QTL) 解析の結果は第 11 番染色体の 16.2~21 cM 領域に高い LOD 値が示されている。この領域に位置している遺伝子からタンパク質をコードしている遺伝子で、コーディング領域において SNP (cSNP) が報告されている遺伝子として MEGF10 遺伝子を選択した。MEGF10 遺伝子には 7 つの cSNP が報告されており、そのうち 5 箇所の cSNP はアミノ酸の変異を伴う。この 5 箇所の cSNP (SNP2, 4, 5, 6, 7) についてイヌ 26 頭 (10 犬種ならびに雑種) での解析を行った。犬種ごとの頭数が異なるため、犬種間の差異についての統計的な解析はできないが、SNP4 と SNP5 では多くのイヌが MEGF10 遺伝子配列として報告されている塩基 (以下 Std) を示したが、SNP2 と 6 では Std と SNP として報告されている塩基 (以下 SNP) の比は 2 対 1 程度であり、さらに SNP7 では SNP を示した頭数が 65% 以上であり、Std として示されている塩基の頻度より約 2 倍高いことが示された。特に、ミニチュアダックスフンドでは SNP6 と SNP7 で 7 頭中 6 頭が SNP の塩基を示した。また、チワワでも SNP7 で解析した 3 頭全てが SNP の塩基を示した。

Summary

Although quantitative trait locus (QTL) analysis showed a high LOD score in a region from 16.2 to 21 cM of canine chromosome 11 for canine hip dysplasia (CHD), CHD-related gene or genes remain unknown. In this study we analyzed single nucleotide polymorphism (SNP) of multiple EGF-like domains 10 (MEGF10) gene of dogs, because MEGF10 gene is located from 16.2 to 21 cM region of canine chromosome 11 and plural SNPs were reported in the coding region of MEGF10 gene. There are 7 SNPs in the coding region of MEGF10 gene, of which 5 SNPs cause substitution of amino acids. The 5 SNPs (SNP2, 4, 5, 6 and 7) in

MEGF10 gene of 26 dogs (10 different breeds and mongrel) were analyzed. Although most of dogs showed original nucleotides sequence for SNP 4 and 5, 8 and 7 dogs showed polymorphic nucleotides for SNP 2 and 6, respectively. Furthermore, 17 dogs showed polymorphic nucleotide for SNP7. Especially six of seven Miniature Dachshund and all Chihuahau (number 3) showed polymorphic nucleotide for SNP7.